

UNIVERSITE DE PARIS VI
FACULTE DE MEDECINE — SAINT-ANTOINE

ANNÉE 1971

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Brigitte PRIEUR, née DEMERGERS

Née le 27 Octobre 1943, à Mortagne (61)

Présentée et soutenue publiquement le

197

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA FLORE INTESTINALE AÉROBIE
DU NOUVEAU-NÉ**

(130 prélèvements à la naissance)

Président : M. DAGUET, Professeur

PARIS — 1971

UNIVERSITE DE PARIS VI
FACULTE DE MEDECINE — SAINT-ANTOINE

ANNÉE 1971

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Brigitte PRIEUR, née DEMERGERS

Née le 27 Octobre 1943, à Mortagne (61)

Présentée et soutenue publiquement le

197

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA FLORE INTESTINALE AÉROBIE
DU NOUVEAU-NÉ**

(130 prélèvements à la naissance)

Président : M. DAGUET, Professeur

PARIS — 1971



U N I V E R S I T E D E P A R I S V I

F A C U L T E D E M E D E C I N E S A I N T - A N T O I N E

-:-:-:-:-

Professeurs titulaires

MM. ANDRE R.	Hématologie
BRISSAUD H.	Pédiatrie
BROCARD R.	Médecine
BUGNARD L.	Biophysique
CAROLI J.	Médecine
CERBONNET G.	Chirurgie
CHERIGIE Ed.	Radiologie
CHIGOT P.L.	Chirurgie infantile
CONTE M.	Médecine
DAGUET L.	Bactériologie
DEBRAY J.	Médecine
FLABEAU F.	Chirurgie
GERBEAUX J.	Thérapeutique
GOSSET J.	Chirurgie
HUGELIN A.	Physiologie
LAPLANE R.	Pédiatrie
LELORIER G.	Obstétrique
LOEPER J.	Médecine Expérimentale - Immunologie
LOYGUE J.	Chirurgie

MM.	MAROIS M.	Histologie
	MERGER R.	Obstétrique
	MILHAUD G.	Biophysique
	NICK J.	Neurologie
	ORCEL L.	Anatomie Pathologie
	PERRAULT M.	Médecine
	POLONOVSKI Claude	Pédiatrie
	POLONOVSKI Jacques	Biochimie
	RICHET G.	Néphrologie
	WOLFROMM R.	Médecine

Professeurs sans chaire

	BRICOUT	Bactério-Virol.
M.	CHALUT J.	Radiologie
Mme	CHAPUT A.	Stomatologie
	DUHAMEL G.	Hématologie
	GIRARD F.	Physiologie
	GOLVAN Y.J.	Parasitologie
	LESTRADET H.	Pédiatrie
	PICARD J.	Biochimie
	ROUX Ch.	Embryologie

Maitres de Conférences Agrégés

MM. AKOUN G.	Médecine	MM. HERMAN D.	Médecine
ARDAILLOU A.	Physiologie	HUGUET Cl.	Chirurgie
BAUX S.	Chirurgie	HUGUIER M.	Chirurgie
BITKER M.	Urologie	JACQUILLAT Cl.	Hématologie
BOURY G.	Chirurgie	LASFARGUES G.	Pédiatrie
CATINAT J.	Médecine	LEVY V.G.	Médecine
CHEYMOL G.	Pharmacologie	MALAFOSSE M.	Chirurgie
CHOUARD Cl.	O.R.L.	MENSCH B.	Biophysique
CLOAREC M.	Médecine	MERY J. Ph.	Néphrologie
Mme COMBRISSE A.	Immunologie	Mme MIGNON Fr.	Néphrologie
CONTAMIN Fr.	Médecine	OPOLON J.P.	Médecine
COSCAS G.	Ophtalmologie	PIERON R.	Médecine
DAUTRY P.	Chirurgie	PISSARRO B.	Médecine préventive
DELIGNE P.	Anesthésiologie	POULET J.	Médecine
DOYON D.	Radiologie	RAMPINI Cl.	Biochimie
DRY J.	Médecine	RICHARDET J.M.	Pédiatrie
FOUET P.	Thérapeutique	ROLAND J.	Ana-Path.
GAUTIER H.	Physiologie	SALAT J.	Obstétrique
GRUNER	Chirurgie Infantile	SALMON Ch.	Hématologie
GUILMET Cl.	Anesthésiologie	SANTARELLI J.	Obstétrique
GUIRAUDON G.	Anatomie	WARGON H.	Médecine Expé.
PAQUELIN	O.R.L.	WEINMANN S.	Biochimie

Enseignants Associés

M.C.A. Associé - M. ELIAKIS Em.

Médecine Légale

Enseignants Contractuels

M.C.A. M. KIRSCH

Physiologie-Biochimie

A mon mari,

le Docteur Philippe PRIEUR,

A mes deux fils,

Christophe et Frédéric.

A mes Parents,

avec l'affection que je leur
porte.

A mes frères.

A mon Beau-Père

le Docteur Louis PRIEUR

A ma Belle-Mère,

qu'elle trouve ici l'expression de ma
très profonde reconnaissance.

A toute ma famille et belle-famille

A tous mes camarades d'études.

A notre Président de thèse,

Monsieur le Professeur DAGUET
Professeur de Bactériologie - Virologie
Faculté de Saint-Antoine

Qui nous a fait l'honneur
d'accepter la présidence de cette
thèse et qui nous a donné l'hospi-
talité dans son service.

Qu'il trouve ici l'expression de
notre respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur MERGER

qui nous a permis de réaliser ce
travail dans le cadre de la Maternité
de Saint-Antoine.

A tout le personnel de la maternité,

sa collaboration nous a été précieuse.

A Madame le Docteur F. TESSIER

Qui nous a guidés au cours de cette
thèse par ses conseils et ses critiques.

Au personnel du service central de
bactériologie-virologie de l'Hôpital Saint-Antoine.

A mes Maîtres d'études de la Faculté
de Saint-Antoine.

I N T R O D U C T I O N

L'infection du nouveau-né pose encore de nombreux problèmes tant aux obstétriciens qu'aux pédiatres dans les services hospitaliers. L'infection du tube digestif est en particulier une des menaces les plus fréquentes dans les communautés d'enfants. Cette menace est d'autant plus lourde que des épidémies débutent de façon tout à fait imprévisible, se propagent très rapidement et mettent parfois en jeu le pronostic vital des nouveaux-nés.

L'épidémiologie de ces infections digestives est loin d'être précisée. Elle l'est d'autant moins qu'elle paraît variable avec le cadre hospitalier dans lequel elle est étudiée. Son étude est complexe et longue et comporte plusieurs phases.

Il nous a paru nécessaire, en vue d'une enquête de ce genre, d'étudier dans un premier temps la flore intestinale du nouveau-né dès la naissance. Or la bactériologie du premier méconium a fait l'objet de recherches peu nombreuses en France ces dernières années.

Après avoir précisé ce qu'est le méconium, cette première matière fécale du nouveau-né, et revu dans la littérature ce qui a été dit jusque là de sa flore bactérienne, nous exposerons les résultats de l'enquête préliminaire qui a été faite au Service Central de Bactériologie de l'hôpital Saint-Antoine chez des nouveau-nés de la Maternité.

QU'EST-CE QUE LE MECONIUM ?

Nous reprendrons ici la définition donnée par E. WERTHEIMER dans le Dictionnaire de Physiologie de RICHET :

Le nom de méconium a été donné "par analogie de couleur et de consistance avec le suc de pavot aux matières fécales qui s'accumulent dans les intestins du fœtus, à compter du troisième mois de la gestation, et que l'enfant rend immédiatement après la naissance".

Il s'agit d'une substance noir-verdâtre, visqueuse, émise par le nouveau-né quelques temps après la naissance et dont la composition et les propriétés physicochimiques sont de connaissance assez récente.

Composition chimique :

Le méconium est composé essentiellement d'eau (70 à 80 %), de mucoprotéines et de mucopolysaccharides.

Il contient également des graisses, des stéroïdes, de l'urée, des enzymes.

L'étude du résidu sec montre qu'il se compose :

- . d'azote : 6 à 7 % du poids sec,
azote non protéique de 90 à 95 %
- . de sucres réducteurs : 30 à 35 %, à l'exclusion
 - . du glucose et du glycogène (BUCHANAN et RAPOPORT) (2)
- . de matières minérales : essentiellement
phosphates de Ca et Mg
Sulfates (POLONOWSKI) (14)
- . de graisses, acides gras, cholestérol.

- . d'acides biliaires
- . de bilirubine et de pigments qui en dérivent

La présence d'urobiline et de stercobiline est discutée :

LAMBLING (11) n'en trouve pas et leur absence s'expliquerait par l'absence de bactéries, donc absence de métabolisme bactérien capable de transformer la bilirubine.

RODRIGUEZ, LOZZIO et Coll. (15) trouvent :

- . bilirubine $43 \mu\text{g/g}$ de méconium
- . biliverdine $10 \mu\text{g/g}$
- . urobiline $3,4 \mu\text{g/g}$. Celle-ci serait pour eux d'origine maternelle.

Propriétés physiques :

L'étude de EMBRY (8) sur la viscosité du méconium montre que celle-ci dépend de plusieurs facteurs :

- . la tension superficielle, qui est en fait, d'après la méthode employée par EMERY, la mesure de la tendance à l'adhésion et de la force du méconium
- . la teneur en eau
- . l'activité trypsique
- . la teneur en azote du méconium

EMERY trouve que la viscosité du méconium est

- . directement en rapport avec le poids du résidu sec
- . inversement proportionnelle à la teneur en azote
- . sans rapport avec l'activité trypsique.

BUCHANAN et RAPOPORT (2) ont comparé la viscosité du méconium normal à celle du méconium d'enfants présentant un iléus méconial (une des premières manifestations de la Fibrose Kystique du pancréas caractérisée par la diminution ou l'absence de sécrétion enzymatique du pancréas).

Pour ces auteurs, la viscosité du méconium est sous la dépendance des enzymes pancréatiques qui normalement digèrent la portion protéique du méconium en laissant intacts ou presque les mucopolysaccharides.

La miscibilité du méconium ne semble avoir été étudiée par aucun auteur à notre connaissance.

Aspect histologique

PARAT (12) en a fait une étude précise en 1924 :

Le méconium contient des granulations graisseuses, des débris épithéliaux, des cellules pavimenteuses provenant de la partie supérieure du tube digestif, des cellules épidermiques, du lanugo, de la bile épaissie avec des cristaux de bilirubine et de cholestérine, le tout enrobé dans un mucus transparent visqueux et adhérent, secrété semble-t-il, par les glandes intestinales du fœtus.

Il contient des granulations caractéristiques, les corpuscules de TARDIEU et ROBIN, qui sont des grains de biliverdine de 10 à 20 μ de diamètre, moyen, qui seraient plus exactement faits d'une substance albuminoïde imprégnée de pigments biliaires.

Origine et propriétés diverses

L'origine du méconium reste encore mystérieuse. On sait qu'il commence à se former vers le troisième mois de la vie intra-utérine, date à laquelle la bile commence à se déverser dans l'intestin. C'est aussi à cette date que l'on a noté les premiers mouvements de déglutition de liquide amniotique par le fœtus (Travaux de AHLFELD 1905 et de DAVIS et POTTER 1946, cités dans la thèse de PATOIS (13)).

On a noté aussi la présence d'enzymes digestifs chez le fœtus mais rien n'a encore prouvé l'existence d'une véritable fonction digestive anté-natale (PATOIS cite les travaux de plusieurs auteurs).

BUCHANAN et RAPOPORT (4) ont trouvé que les mucopolysaccharides du méconium possédaient une forte activité spécifique de groupe (comme la salive, les sécrétions gastriques et le liquide amniotique) qui correspondrait à celle des groupes sanguins.

On a attribué également au méconium des propriétés contracturantes sur le muscle utérin, capables ainsi d'aggraver la souffrance fœtale au cours de l'accouchement (Thèse de PATOIS) (13).

On suppose aussi que la présence de méconium dans le liquide amniotique serait un facteur aggravant le syndrome d'embolie amniotique (thèse de PATOIS) (13).

AU TOTAL

La composition du méconium a déjà fait l'objet de nombreuses recherches mais n'est pas encore entièrement élucidée.

La composition chimique est de connaissance récente mais de nombreux points restent obscurs en ce qui concerne l'origine des composants et leur rôle au cours du développement fœtal.

En particulier, la question de fonction digestive réelle chez le fœtus reste sans réponse précise.

L'ETUDE BACTERIOLOGIQUE DU PREMIER MECONIUM
DANS LA LITTERATURE

Les premiers travaux bactériologiques sur le méconium datent de 1885-1886.

ESCHERICH effectuait des prélèvements stériles avec un petit tuyau de plomb monté sur une seringue stérile. Il a constaté que dans les premières heures de la vie extra-utérine le méconium ne contenait aucun microorganisme mais que dès la 3^e ou 4^e heure il existait des espèces bactériennes diverses.

Puis en 1900 TISSIER, dans sa thèse (18) fait une étude de la flore intestinale du nouveau-né et conclut que, après une phase aseptique qui s'étend jusqu'à la 10^e ou 20^e heure, le tube digestif s'infecte progressivement.

Dans le traité de Bactériologie Médicale de DUMAS (Institut Pasteur)⁽⁶⁾ nous notons les conclusions suivantes : pendant 10 heures le méconium est dépourvu de bactéries. Cependant chez 15 % des nourrissons il renferme des Staphylocoques pathogènes et 24 heures après la naissance 80 % des nourrissons sont porteurs de Staphylocoques. (Buttiaux et Pierret). La colonisation se fait ensuite progressivement : Enterococcus, Esch. coli, Klebsiella pneumoniae, B. mesentericus, W. perfringens (TISSIER).

Dans le traité de bactériologie de TOPLEY et WILSON (19) nous trouvons un sommaire des publications anglo-saxonnes qui pour une large part confirment ces constatations :

SCHILD en 1895 constate que des bactéries apparaissent dans le méconium parfois dès la 4^e heure de la vie, le plus souvent entre la 10^e et la 17^e heure. Lorsque l'anus est protégé par une compresse stérile, après désinfection, le méconium reste

stérile pendant 20 heures. Cet auteur précise en outre que dans ce cas la contamination ne se fait plus par l'eau du bain ou par les objets qui sont mis au contact de l'anus, mais par voie alimentaire.

La stérilité du méconium a été confirmée ensuite par plusieurs auteurs (PASSINI 1932) cependant un certain nombre d'autres ont pu cultiver des bactéries dans 10 à 38 % des échantillons examinés très tôt après la naissance "indiquant la possibilité d'un léger degré de contamination ante-natale". (Hymanson and Hertz 1917, Burrage 1927, Hall and O'Toole 1934, Snyder 1936).

HALL and O'TOOLE ont repris leurs travaux en 1945 et ont étudié la nature et l'origine des bactéries apparaissant dans le méconium au bout de quelques heures : pour ces auteurs le méconium ne contient pas de bactéries à la naissance et la rapide apparition des microorganismes est une preuve qu'il faut considérer le tube digestif au moment de la naissance comme un organe prolongeant la surface du corps, donc externe, et non pas comme un organe interne (thèse de PATOIS) (13). Ils ont trouvé que le premier méconium, émis aux environs de la 10^è heure était contaminé dans 40 % des cas sur une série de 50 enfants. Au bout de 24 heures le méconium des 50 enfants contenait des bactéries.

Dans la thèse de PATOIS 1957 (13) nous trouvons une étude faite dans le Service du Pr Ag. MORIN. La conclusion de cette étude est que le méconium est stérile à la naissance et que les bactéries y apparaissent entre la 4^è et la 24^è heure. Les prélèvements faits stérilement au niveau de l'ampoule rectale et avant tout allaitement, montraient la présence de bactéries Gram positif. Certains prélèvements faits au niveau de la marge de l'anus révélaient la présence de bactéries Gram positif et Gram négatif genre Colibacille. Un prélèvement fait à 15 cm de l'ampoule rectale chez un enfant mort-né au terme de 6 mois et autopsié

immédiatement après la naissance ne montrait aucun germe.

Nous citerons enfin les études de SCHMIDT, FELDHEIM et HAENEL (16) faites en 1960 sur deux lots d'enfants 13 prématurés, 13 nés à terme. Il s'agit là d'une étude longitudinale pendant la première semaine de la vie, suivant ainsi l'évolution de la flore intestinale depuis la naissance jusqu'au 8^e jour, donc pendant les premiers jours de l'alimentation lactée, maternelle ou artificielle. Ces auteurs trouvent que le premier méconium émis vers la 12^e heure après la naissance contient des bactéries chez 33 des enfants sur 36 et que ces bactéries appartiennent à des espèces très diverses représentant presque tous les groupes de germes : *L. bifidus*, Putrides, *B. acidophilus*, Colibacilles, Enterocoques, Staphylocoques, *Proteus*.

Parmi les publications les plus récentes, nous constatons que l'accord qui s'était fait au sujet de la stérilité du méconium avant la 4^e heure n'est plus aussi parfait.

En effet STIETZEL en 1967 (17) étudia 114 méconiums d'enfants nés spontanément : sur ces 114 méconium recueillis avant même la section du cordon ombilical 11 seulement étaient stériles, 103 étaient déjà contaminés. Les bactéries les plus fréquemment cultivées étaient : Staphylocoque, *Esch. coli*, Streptocoque non hémolytique et levures, en cultures pures ou mixtes.

Il ne trouve par ailleurs aucune relation évidente entre la durée d'ouverture de l'oeuf et le degré de contamination du méconium à la naissance.

Cet auteur n'a pas cherché la provenance des bactéries isolées mais il pense que les levures doivent provenir du vagin de la mère et que les Colibacilles proviennent du rectum de la mère.

AU TOTAL

Au terme de cette analyse bibliographique, nous constatons que jusque vers les années 1960 tous les chercheurs s'accordaient pour dire que le méconium est stérile à la naissance et jusque vers la 4^e ou 10^e heure. Nous pouvons remarquer également qu'à mesure que l'on se rapproche des années 1960 des espèces bactériennes plus variées sont identifiées plus précocement dans les prélèvements de méconium. Il ne nous a pas été possible de connaître avec précision par quelle méthode exacte de prélèvement et d'examen du prélèvement ces auteurs étaient parvenus à leurs conclusions, sauf dans le cas de STIETZEL (17) qui fut le seul à trouver des bactéries dans le méconium dès la naissance.

ETUDE BACTERIOLOGIQUE PERSONNELLE

- Protocole d'étude
- Résultats
- Commentaires

Protocole d'étude

Méthode et matériel

Le protocole de notre expérimentation comportait deux phases :
La première était celle de l'écouvillonnage :

Nous disposions pour cela de 2 écouvillons stériles qui étaient introduits successivement dans le rectum de l'enfant, immédiatement après la naissance, donc avant toute toilette et avant toute autre manipulation.

Les écouvillons étaient ensuite directement apportés au laboratoire où ils étaientensemencés. Parfois ils étaient placés au réfrigérateur en attendant d'être examinés.

La deuxième phase était celle de l'ensemencement :

. Un des écouvillons était directementensemencé sur
3 boîtes de Pétri :

- une boîte de gélose sur laquelle poussent tous les germes aérobies courants
- une boîte de milieu de Chapman sélectionnant principalement les Cocci Gram positif, essentiellement les Staphylocoques
- une boîte de milieu de Drigalski sélectionnant les bacilles Gram négatifs.

. Le deuxième écouvillon était plongé dans un tube de bouillon ordinaire où se multiplient facilement toutes les bactéries courantes et placé à l'étuve jusqu'au lendemain où l'éventuelle culture étaitensemencée également sur 3 boîtes de Pétri (gélose, Chapman, Drigalski).

Chaque espèce bactérienne était ensuite identifiée par les méthodes appropriées (Gram, caractères biochimiques)

Les Staphylocoques étaient identifiés par :

- isolement sur milieu de Chapman
- aspect des colonies sur ce milieu
- Gram
- Catalase
- recherche de la staphylocoagulase sur lame et en tube pour identifier les Staphylocoques pathogènes.

Les Streptocoques

- aspect des colonies sur gélose
- Gram
- catalase

Les Entérobactéries et autres bacilles Gram négatif

- aspect des colonies sur milieu de Drigalski
- oxydase
- culture sur milieu urée-indole
- culture sur milieu de HAJNA
- culture en bouillon nitraté
- sérologie pour les colibacilles
- Galerie biochimique plus complète pour les germes moins courants.

Nous parvenaient donc chaque matin les prélèvements de l'après-midi et de la nuit précédentes, après leur séjour au réfrigérateur, et les prélèvements du matin, accompagnés d'une feuille de renseignements cliniques sur l'état du nouveau-né et les conditions de l'accouchement (durée d'ouverture de l'oeuf, aspect du liquide amniotique, manoeuvres instrumentales éventuelles au cours de l'accouchement).

Exposé des résultats

Nous avons recherché les bactéries aérobies dans 130 prélèvements rectaux chez des nouveaux nés normaux, nés par les voies naturelles dans 120 cas, par césarienne dans 10 cas.

Nous nous sommes limités aux bactéries aérobies cultivant facilement sur les milieux ordinaires et habituellement retrouvées dans la flore intestinale du nourrisson.

Notre but n'est pas d'établir ici d'où viennent les bactéries que nous avons cultivées mais seulement de voir dans quel pourcentage le rectum du nouveau-né contient dès la naissance des espèces bactériennes susceptibles d'être le point de départ de la colonisation de l'intestin et de savoir quelles sont les espèces les plus fréquemment rencontrées.

Certains prélèvements étaient visiblement porteurs de méconium à l'ensemencement, d'autres ne l'étaient pas. Pour la commodité de l'exposé nous les avons séparés. Cependant il nous paraît difficile d'affirmer que les écouvillons sur lesquels nous ne voyions pas de méconium n'en étaient pas réellement pas porteurs à l'échelle microscopique.

D'autre part, du point de vue épidémiologique il nous semble impossible de séparer nettement du fait de leurs contacts intimes d'une part le rectum que nous devons considérer comme le prolongement du revêtement cutané et, d'autre part, le méconium qu'il contient.

I - Résultats globaux sur 130 prélèvements

39 étaient stériles, soit 30 %

91 n'étaient pas stériles, soit 70 %

II - Les résultats varient suivant que l'on constate ou non la présence de méconium sur l'écouvillon : ils ne portent que sur 125 prélèvements car dans 5 cas il n'a pas été noté s'il y avait ou non du méconium sur l'écouvillon.

. Prélèvements avec méconium

26 stériles 27 soit 28,1 %
 non stériles 69 soit 71,9 %

. Prélèvements sans méconium

29 stériles 11 soit 37,9 %
 non stériles 18 soit 62,1 %

. Les espèces bactériennes que nous avons cultivées se trouvent également dans des proportions variables suivant la présence ou l'absence de méconium sur le prélèvement.

	avec méconium 69 prél. 71,9 % contaminés		sans méconium 29 pr. 62,1 % contaminés	
Staphylocoques non pathogènes	50	72,4 %	12	66,6 %
Colibacilles non entéro-pathogènes	28	40,5 %	5	2,7 %
Streptocoques	27	39,1 %	7	3,8 %
Corynébactéries	20	28,9 %	1	0,5 %
Alcaligènes	3	4,3 %	1	0,5 %
Levures	2	2,9 %	1	0,5 %
Klebsielle	1	1,5 %	0	0
Alcalesceus	1	1,5 %	0	0
Dispar	0	0	2	1,1 %
Proteus	0	0	1	0,5 %

III - Les Associations de germes

Les bactéries les plus fréquemment rencontrées l'étaient soit en culture pure soit associées entre elles :

1) les cultures pures étaient rares

19 fois Staphylocoques

7 fois Streptocoques

6 fois E. coli

2) les associations de germes étaient la règle :

la plus fréquente était celle de

E. Coli + Staphylocoque 12 cas

une triple association était assez fréquente

E. Coli + Staphylocoques + Streptocoques 9 cas

	Staphylo- coques	Strepto- coques	Coliba- cilles	Coryné- bactéries
Staphylocoques	19			
Streptocoques	7	7		
E. coli	12	5	6	
Corynébactéries	11	1	1	2

Parmi les associations de germes rencontrées, c'est le Staphylocoque qui s'est le plus souvent trouvé en culture mixte : dans 45 cas il était associé à 1 ou plusieurs autres germes (E. coli - Streptocoques).

IV) Présence de germes en fonction de la durée d'ouverture de l'oeuf avant l'accouchement

Nous entendons par durée d'ouverture de l'oeuf le temps écoulé entre le moment de la rupture de la "poche des eaux" et celui de la naissance. Lorsque cette durée se prolonge les cliniciens s'accordent à penser que le risque d'infection du fœtus est important.

VI) Comparaison entre les prélèvements des enfants nés par
césarienne et par les voies naturelles

Ecouvillons	Stériles		Non stériles	
	Nombre	%	Nombre	%
Voies natu- relles : 120	32	26,6%	88	73,3%
Césariennes 10	7	70 %	3	30 %

DISCUSSION DE LA METHODE EMPLOYEE

1°) L'examen direct après coloration par la méthode de Gram est un temps fondamental dans l'étude de toute coproculture, permettant d'apprécier l'abondance des microorganismes et leurs proportions respectives (bacilles et Cocci, Gram + et Gram -).

Nous avons donc pratiqué des colorations de Gram sur les frottis faits à partir des écouvillons (après ensemencement de ceux-ci). Or nous avons constaté très rapidement que cette technique était insuffisante dans notre cas particulier pour mettre les bactéries en évidence.

Les difficultés d'interprétation tenaient essentiellement au fait que ces bactéries étaient en très faible quantité, sur l'écouvillon, et qu'elles n'étaient pas obligatoirement visibles sur le frottis.

Par ailleurs une difficulté venait du fait que le méconium, prend fortement les colorants en raison de sa composition, masquant ainsi la présence des microorganismes qui pourraient se trouver sur la lame en très petit nombre.

2°) Pour les mêmes raisons l'ensemencement direct sur les boîtes de Pétri des bactéries présentes en très petit nombre sur l'écouvillon n'a pas toujours donné de culture.

Dans 27 cas sur 114 nous n'avons observé de culture qu'avec le 2ème écouvillon, après passage de 24 heures en bouillon.

3°) L'étude d'un mélange microbien après culture de 24 heures en bouillon présente des inconvénients importants et peut donner des résultats critiquables : le fait que certaines espèces bactériennes se multiplient plus rapidement que d'autres risque d'une part de fausser l'appréciation quantitative (ce qui nous importe peu ici puisque nous n'avons pas pratiqué de numération

de germes), d'autre part de masquer la présence des espèces à développement plus lent.

Cependant il était important de ne pas perdre les micro-organismes éventuellement présents sur l'écouvillon : l'ensemencement direct seul ne pouvait pas nous assurer de façon certaine la mise en évidence des bactéries étant donné leur petit nombre, d'autant plus qu'il n'était pas impossible que certaines restent emprisonnées soit dans le méconium soit dans le support de coton de l'écouvillon.

Le passage de 24 heures en bouillon avant l'ensemencement malgré les inconvénients dont nous sommes conscients, nous a paru la seule méthode assez sûre pour mettre en évidence la présence, ne serait-ce que d'un seul élément bactérien. Par ailleurs les bactéries de la flore intestinale normale (Staphylocoques - Streptocoques - Colibacilles) ne sont pas des espèces particulièrement fragiles et nous pouvons raisonnablement admettre que le passage en bouillon ne les a ni masquées ni détruites.

C O M M E N T A I R E S

1°) Ainsi sur 130 prélèvements rectaux, 39 seulement sont stériles soit 30 %. Des espèces bactériennes qui constitueront la flore normale du nourrisson ont été cultivées soit isolées soit associées entre elles dans les 91 autres prélèvements soit 70 %. Ces microorganismes étaient présents au niveau du rectum du nouveau-né dès les premières minutes de la vie.

Ces résultats ne s'accordent pas avec la conception généralement admise de stérilité du méconium à la naissance.

En effet, nous avons vu que jusque vers les années 1960 les auteurs s'accordaient pour dire que le méconium était stérile de la naissance jusqu'à la 4^e heure : ce sont les résultats des travaux d'Escherich en 1885, qui fut semble-t-il le premier à étudier le méconium sous l'angle bactériologique, puis ceux des travaux de Schild 1895, de Tissier dans sa thèse en 1900, enfin des Traités de bactériologie.

Ce n'est qu'en 1960 que des auteurs allemands que nous avons cités (Schmidt - Feldheim - Haenel 1960 puis Stietzel surtout en 1967) donnent de l'étude bactériologique du méconium une toute autre idée.

Encore devons-nous préciser le terme même d'étude du méconium :

L'émission du 1^{er} méconium se fait à des temps variables après la naissance : certains nouveau-nés émettent du méconium dès la naissance, d'autres au bout de plusieurs heures. Or dans une étude bactériologique de ce genre il nous paraît essentiel de préciser l'heure du prélèvement par rapport à la naissance.

C'est pour éviter ces variations d'horaire que nous avons préféré faire un écouvillonnage rectal dès la naissance plutôt que d'attendre l'émission spontanée de méconium.

C'est d'ailleurs ainsi que Stietzel (17) a procédé puisqu'il faisait des prélèvements rectaux avant même la section du cordon ombilical. Ses résultats sont en outre en accord avec les nôtres puisque sur 114 méconiums recueillis de cette façon, il trouve 11 prélèvements stériles, soit 9,6 % et 103 non stériles, soit 90,4 %.

Nos résultats sont donc surprenants si nous les comparons avec ceux des auteurs par le fait même que nous avons trouvé des bactéries au niveau du rectum du nouveau-né dès la naissance.

2°) Le pourcentage des bactéries sur les écouvillons varie selon que ceux-ci sont ou non porteurs de méconium : 71,9 % de prélèvements non stériles si ceux-ci sont visiblement vecteurs de méconium, 62,1 % seulement dans les cas où il n'y a pas de méconium visible.

Il nous semble difficile d'en tirer des conclusions car la différence de pourcentage n'est pas significative ; cependant il apparaît que la présence de bactéries sur le prélèvement coïncide avec celle de méconium en quantité appréciable.

3°) Les espèces bactériennes le plus fréquemment rencontrées sont les Staphylocoques, E. coli et les Streptocoques.

Ici encore nous constatons que leur pourcentage varie selon la présence ou l'absence de méconium sur le prélèvement :

Si les Staphylocoques sont présents dans des proportions relativement semblables que le prélèvement ait ramené ou non du méconium, ce qui tendrait à prouver qu'il s'agit de Staphylocoques saprophytes présents également au niveau du revêtement cutané, par contre les Streptocoques et les E. coli ont été isolés de manière beaucoup moins fréquente lorsque le prélèvement n'avait pas récolté de méconium que lorsqu'il en avait

récolté (prélèvements avec méconium 39,1 % de Streptocoques, 40,5 % d'E. coli ; prélèvements sans méconium 3,8 % de Streptocoques, 2,7 % d'E. coli).

Ainsi, si nous pouvons évoquer la possibilité d'une souillure des prélèvements au niveau de la peau et de la marge de l'anus de l'enfant au moment de l'écouvillonnage en ce qui concerne les Staphylocoques, nous ne pensons pas devoir retenir cette hypothèse dans le cas des Streptocoques et des E. coli que nous avons isolés.

Pour les mêmes raisons nous ne croyons pas qu'il faille retenir la contamination des écouvillons par le personnel chargé d'opérer les prélèvements.

4°) Nous n'avons pas démontré quelle était l'origine des microorganismes que nous avons mis en évidence dans le méconium et dans le rectum des nouveau-nés. En effet notre enquête n'était pas dirigée dans ce sens. Cependant à l'aide des résultats que nous avons obtenus, nous pouvons faire quelques hypothèses.

Ce problème comporte plusieurs variables et suivant que l'on envisage la possibilité d'une contamination anténatale ou perinatale du tractus digestif de l'enfant, la provenance des microorganismes peut être différente.

Quelle que soit la date à laquelle les bactéries pénètrent dans le tube digestif nous pouvons envisager que l'infection peut se faire par voie buccale ou par voie anale.

En effet, bien que la réalité d'une fonction digestive chez le fœtus ne soit pas démontrée, les premiers mouvements de déglutition ont été notés vers le 3ème mois de la vie intra-utérine.

Le foetus peut donc se contaminer avant la naissance par l'intermédiaire du liquide amniotique. Pour étayer cette hypothèse il aurait fallu comparer nos résultats avec ceux de cultures du liquide amniotique correspondant. Nous n'avons pas cultivé le liquide amniotique, cependant dans les cas où nous aurions pu penser qu'il était contaminé (durée d'ouverture de l'oeuf supérieure à 7 heures) ; nous n'avons pas constaté une plus forte proportion de prélèvements contaminés que dans les autres cas. Stietzel (17) ne trouve pas non plus de relation évidente entre la durée d'ouverture de l'oeuf et le degré de contamination du méconium.

Dans un cas extrême de notre étude où la durée d'ouverture de l'oeuf était de 108 heures, le liquide amniotique était clair et le prélèvement rectal stérile.

Chez les enfants qui naissent par césarienne, la poche des eaux est ouverte au moment même de la naissance et le liquide amniotique a peu de chances d'être contaminé. Dans ces cas nous trouvons une proportion de prélèvements rectaux stériles beaucoup plus importante (70 %).

La contamination perinatale est l'hypothèse la plus vraisemblable.

Le passage de la filière génitale maternelle au cours de l'accouchement met en contact l'enfant avec des cavités naturelles que nous savons riches en bactéries saprophytes.

Lors d'une enquête antérieure nous avons pu, dans deux cas, mettre en évidence des espèces bactériennes identiques dans le méconium de l'enfant et dans le prélèvement génital de la mère (*E. coli* dans le premier cas, *Proteus morganii* dans le second cas).

La voie de pénétration des microorganismes chez l'enfant lors du passage dans les voies génitales est vraisemblablement la voie anale. En effet si le nouveau-né peut se contaminer par voie buccale au cours de l'accouchement, il est peu probable que les bactéries que nous avons mises en évidence dès la naissance dans le prélèvement rectal soient celles que l'enfant a dégluties quelques minutes avant.

Il est concevable que le rectum se contamine pendant la naissance à la suite du passage par la filière génitale, les bactéries pénétrant par voie anale à partir du revêtement cutané.

Ce mode de contamination n'est sans doute pas le seul puisque chez les enfants nés par césarienne nous trouvons 30 % de prélèvements rectaux non stériles.

Par ailleurs, les résultats de l'expérience de SCHILD en 1895 confirment l'hypothèse de la pénétration des bactéries par voie anale en montrant que le délai de contamination du méconium après la naissance est plus long lorsque l'anus est protégé par une compresse stérile.

C O N C L U S I O N S

Nous avons recherché les bactéries aérobies dans 130 prélèvements rectaux effectués à la naissance chez des nouveau-nés normaux.

Nos résultats indiquent qu'à la naissance le méconium contient des bactéries :

- dans les cas où l'écouvillonnage récolte une quantité appréciable de méconium nous avons trouvé des bactéries dans une proportion de 71,9 %
- dans les cas où l'écouvillon n'est pas visiblement vecteur de méconium nous observons des bactéries dans une proportion de 62,1 %.

Les espèces bactériennes les plus fréquemment rencontrées sont : les Staphylocoques, les Streptocoques, les E. coli

- . Les Staphylocoques sont présents en proportions sensiblement équivalentes que l'écouvillonnage ait récolté visiblement du méconium ou non.
- . Pour les Streptocoques et E. coli, qui seront les constituants de la flore intestinale normale, il existe une importante différence entre les prélèvements récoltant du méconium et ceux n'en récoltant pas :

- Streptocoques
 - 39 % dans les prélèvements avec méconium
 - 4 % dans les prélèvements sans méconium
- E. coli
 - 40 % dans les prélèvements avec méconium
 - 3 % dans les prélèvements sans méconium

La provenance de ces bactéries, leur mode de pénétration dans le tube digestif du nouveau-né ne sont pas clairement démontrés.

La durée de l'ouverture de l'oeuf avant la naissance ne semble jouer aucun rôle dans la contamination du méconium à la naissance, l'aspect du liquide amniotique ne constitue pas un bon critère pour juger du degré de contamination du tube digestif de l'enfant dans les premières minutes de la vie.

Chez les enfants nés par césarienne les prélèvements rectaux sont stériles dans 7 cas sur 10.

AU TOTAL,

Nous retiendrons que dans le cadre hospitalier où nous avons effectué cette enquête préliminaire la proportion d'enfants porteurs de bactéries au niveau du rectum à la naissance est plus importante que les données classiques ne permettaient de le prévoir.

Des recherches restent à faire pour tenter de préciser quelle est la date et quel est le mode de pénétration des microorganismes dans le tractus digestif du nouveau-né.

Vu, le Doyen :

Pr. LOYGUE

Vu, le Recteur :

M. MALLET

Vu, le Président :

Pr. DAGUET

B I B L I O G R A P H I E

1. BIERRING F., ANDERSEN H. -
"On the nature of the meconium corpuscles in human foetal intestinal epithelium".
ACTA PATH. ET MICROBIOL. SCANDINAVIA
1964 : 61 : 3 : pp. 364. 393.
2. BUCHANAN J., RAPOPORT S. -
"Chemical comparison of normal meconium and meconium from a patient with meconium ileus".
PEDIATRICS.
1962 : 9 : 3 : pp. 304. 310.
3. BUCHANAN J., RAPOPORT S. -
"Composition; serologic study of blood group specific substances found in individual meconium".
PROC. SOC. EXPER. BIOL. and MED.
May 1951 : 77 : pp. 114. 117.
4. BUCHANAN J., RAPOPORT S. -
"Chemical study of blood group specific substances found in meconium".
J. BIOL. CHEM.
Sept. 1951 : 192 : pp. 251 - 260.
5. CARDI E., ORZALESI M. -
"La composizione del meconio del pramatur".
ACTA PAEDIATRICA LATINA.
1962 : Vol. 15 : N° 2 : pp. 204 - 208.
6. DUMAS J., Chef de Service à l'Institut Pasteur
Bactériologie Médicale (Flammarion éditeur)
Ch. V p. 1151.

7. EMERY J.L. -

"Laboratory observations on the viscosity of meconium"

ARCHIVES OF DISEASES IN CHILDHOOD.

1954 : 29 : 143 : pp. 34 - 37.

8. EMERY J.L. -

"Variations in proteolytic activity of children's stools study of meconium and stools from normal and ill children".

ARCH. DIS. CHILDHOOD.

June 1952 : 27 : pp. 257 - 261.

9. EASTMAN N.J. -

OBSTETRIC.GYNEC. SURVEY

1948 : 3 : 35.

10. KOPITO L., SHWACHMAN H. -

"Mineral composition of meconium"

JOURNAL OF PEDIATRICS.

1966 : V. 68 : N° 72 : pp. 1787-- 1807.

11. LAMBLING E. -

Traité de Biochimie 1911.

12. PARAT M. -

"Le méconium est-il un déchet ?"

Laboratoire d'Anatomie et de Physiologie de la
Faculté des Sciences de Paris

1924.

13. PATOIS P. -

"Contribution à l'étude physiologique du méconium"

Thèse PARIS 1957, N° 911.

14. POLONOWSKI -

Biochimie Médicale

chapitre V p. 720.

15. RODRIGUEZ GARAY E., LOZZIO B. -
"Les pigments biliaires du méconium humain"
REVUE INTERNAT. D'HEPATOLOGIE
1964 : V. 14 : N° 4 : pp. 323. 334.
16. SCHMIDT, FELDHEIM, HAENEL -
"Über die Besiedlung des Meconiums"
ZENTRALBLAT FÜR BAKTERIOLOGIE PARASITENKUNDE
Janv. 1960 : 177 : pp. 62. 71.
17. STIETZEL H. -
"Über den Keimgehalt des Erst. Mekonium bei
Spontangeburt".
ZENTRALBLAT FÜR GYNAEKOLOGIE
1967 : 37 : 89 : pp. 1282. 1286.
18. TISSIER H. -
"Recherche sur la flore intestinale des nourrissons"
THESE PARIS 1900 N° 529.
19. TOPLEY AND WILSON'S -
Principles of Bacteriology and Immunity
(Edward Arnold éditeur)
4è édition Vol. 2 ch. 90 p. 2255.
-

